

⑩ 日本国特許庁 (J P)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭63-170323

⑬ Int. Cl.

A 61 K 35/78

識別記号

ABF  
AEM

庁内整理番号

8413-4C  
8413-4C

⑭ 公開 昭和63年(1988)7月14日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 抗アレルギー剤

⑯ 特 願 昭61-315645

⑰ 出 願 昭61(1986)12月29日

⑱ 発 明 者 久 保 道 徳 大阪府堺市曙美台2丁21番8号  
⑲ 発 明 者 野 上 真 理 大阪府吹田市津雲台5丁目7番12号  
⑳ 出 願 人 コスモ開発株式会社 東京都港区芝浦1丁目1番1号  
㉑ 代 理 人 弁理士 八 木 田 茂 外2名

明 細 書

① 発明の名称

抗アレルギー剤

② 特許請求の範囲

有効成分として柑橘類の未成熟果実の水溶性エキスを含有してなる抗アレルギー剤。

③ 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は柑橘類の未成熟果実の水溶性エキスを有効成分としてなる抗アレルギー剤に関する。

従来の技術及び問題点

近年の著しい技術革新による文明、産業の発達には社会構造や生活様式にも変化を招来し、それにもなつて人々が罹患する疾病にも、また従来と異なる変化が生じるようになってきている。特に、気管支喘息、鼻炎、じんま疹、薬剤アレルギー、花粉症、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患は現代病ともいわれ、罹患率も年々高くなりつつある。

これらアレルギー疾患の個々については、その

成因が解明されつつあるとはいえ、実際の治療の面では、主としてアレルギー反応を起こす原因を排除するかあるいは成因のひとつひとつに対応する薬物を投与する方法がとられている。

しかしながら、たとえば花粉症などのように原因となる花粉を無くしてしまうことは現実的に不可能なことであり、また薬物(抗ヒスタミン剤、脱顆粒抑制剤、β-刺激剤など)の投与では一時的に症状が抑制されることはあつても、効果及び副作用の面で充分とはいえない現状にある。かかる現状において、各種アレルギー疾患のなかでも特に気管支喘息、アレルギー性鼻炎、皮膚炎などに対して強い抗アレルギー効果を有し、しかも投与量の投与に耐え得る安全性の高い新しい治療薬の開発が希望されている。

問題点を解決するための手段、作用及び効果

本発明者らは、柑橘類の未成熟果実の水溶性エキ스가かなり強い抗アレルギー作用を有し、しかもその毒性が極めて低いとの知見を得て本発明を完成した。

ところで各種の柑橘類が漢薬として有用であることは古くから知られており、なかでもミカンの成熟した果実の皮は陳皮、オオベニミカン(中国名: 酒橘、学名 *Citrus tangerina* Hort.)、コベニミカン(中国名: 朱橘、学名 *Citrus erythrosa* Tanaka)等の未成熟な果皮をいし効果は胃皮と

称されて、陳皮は胸腹脹痛、食欲不振、嘔吐泄瀉、痰を伴う咳嗽に、胃皮は腹間から腰節にかけての疼痛、食積孔道共にそれぞれ応用されている。

また、柑橘類の中に含有されるフラボノイド配糖体が血圧降下作用を有することもすでに知られている(蔵元、日本農芸化学会誌、59、683

(1985))が、柑橘類の未成熟な果実中に抗アレルギー作用を示す成分が存在することについては、本発明者らの知る限り、何等開示されておらず、示唆もなされていない。

したがって本発明は、有効成分として柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスを含有してなる抗アレルギー剤を提供するものである。

本明細書において、柑橘類について使用する

“未成熟な果実”の用語は、一般に果実の着果後の生産過程において、果皮が硬化する以前であつて、しかも果肉直徑が果皮直徑の $1/2$ と半分以下である未成熟段階の果実を意味するものである。たとえば温州ミカン(学名 *Citrus unshiu* Marcov.)については、着果後2カ月ないし3カ月を経過した植株が約2.5cm以上、約4.5cm以下で、果汁中のクエン酸含量が3.5重量%以上、糖度が9重量%以下である、果皮が硬化する以前の果肉直徑が果皮直徑の $1/2$ と半分以下の未成熟な果実がこれに相当する。

本発明において有効成分として使用する柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキ스는、かかる果実を適宜の大きさに切断し又は圧搾した後、水で抽出し、抽出液をエタノールで処理し、処理物を蒸過し、残渣を濃縮しかつ凍結乾燥することによつて容易に調達することができる。柑橘類としては温州ミカンが大量かつ容易に入手できかつ本発明の意図する目的のために優れた効果を奏する点で特に好ましく、以下においては温州ミカンの未成熟

果実からの水溶性エキスの製造例及びその抗アレルギー剤としての作用効果を例証する試験例及びその抗アレルギー剤としての調製例について説明するが、本発明の目的を有効に達成し得る限りにおいてその他の柑橘類の未成熟果実も同様に使用し得ることは云うまでもない。

#### 実施例

##### 製造例

本例は本発明の有効成分である水溶性エキスの製造を例証するものである。

和歌山県下津町で栽培中の温州ミカンの着果してから2.5ヶ月の直径3.0cmから3.5cmの果実を採収し、この1kgをジューサーで圧搾しすりつぶした。果汁中のクエン酸含量は3.92重量%、糖度は7.6重量%であつた。すりつぶした泥状果汁を5Lの水の中に投入し、30分間攪拌した。ついで遠心分離(3000 rpm、20分間)して上澄液と残渣に分け、この上澄液にエタノール(99%容量%)3Lを加えて30分間攪拌した後、加圧蒸過し、残渣を液量が4Lになるまで減圧濃縮し、つ

いで凍結乾燥して目的とする水溶性エキスポ末5.4gを得た。

この水溶性エキスポ末はつぎの性質を有するものであつた。

- |         |   |
|---------|---|
| (1) 灰分  | 9.21%   |
| (2) 酸価  | 0%  |
| (3) 水分  | 8%  |
| (4) 糖分  | 17.0%   |
| (5) 脂肪  | 2%  |
| (6) 溶解性 | 可溶: 水<br>不溶: アセトン、プロパノール<br>一部可溶: エタノール、メタノール |
| (7) 外観  | 淡褐色粉末   |

- (8) ゲル・パーミエーション クロマトグラム

下記条件で測定し、エタレングリコール換算分子重として第1図に示す。

装置: HOSO HLC - 803 C

分析カラム: G 4000, G 3000

移動相: 水

検出器: RI

試 料：0.1g水性エキス/6ml水

(10) IRスペクトル

KBr錠剤法で測定したIR吸収スペクトルを前2図に示す。

つぎに本発明の有効成分である水性エキスの抗アレルギー作用を試験例をあげて説明する。以下の試験例において使用した水性エキスは上記製造例によって製造したものである。

試験例1

# ラット腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用

ラット腹腔から肥満細胞をとり出し、これにヒスタミン遊離物質〔コンパウンド(Compound) 48/80あるいは卵白アルブミン液(BWA)]と上記のごとく調製した未改修エキスの水性エキスを作用させて肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制効果の評価した。

実験条件

実験動物としてウィスター(Wistar)系雄性

え、さらに10分間インキュベートした。次いで氷浴し、5°C、1200 rpmで5分間遠心分離した後、上清中のヒスタミン含有量をShoreらの方法〔J. Pharmacol. Exp. Ther., 127, 182(1959)]に準じて蛍光法で測定した。

結果

第1表に示すとおりである。

第1表 ヒスタミン遊離抑制効果

試料	濃度 (μg/ml)	抑制率 (%)
水性エキス	100	43.2
"	500	53.5

※ ヒスタミン遊離率を細胞の総ヒスタミン量に対するPBS中のヒスタミン含量の百分率として算出し、次式に従ってヒスタミン遊離抑制率を求めた。

$$\text{遊離抑制率}(\%) = \left( \frac{\text{試料存在下のヒスタミン遊離率} - \text{自発遊離率}}{\text{試料非存在下のヒスタミン遊離率} - \text{自発遊離率}} \right) \times 100$$

ラット(体重200~220g)を用いた。

腹腔肥満細胞の調製はUvnäsらの方法〔Exp. Cell. Res., 18, 512(1959)]に準じて行なった。ラットを断頭出血した後、100μlのヘパリンを含有するヘンクス液10mlを腹腔内に注入し、90秒間腹膜をマッサージし、次いで切開して腹腔液を採取した。採取した腹腔液を、フوسفエートバッファー生理液(PBS)に溶解したフィコールの40g溶液に重層し、室温で30分間放置した後、1200 rpmで10分間遠心分離した。フィコール基層の上層部の白濁層を集め、PBSでくり返し洗滌後、PBS中に $2.9 \times 10^6$ 細胞/mlとなるように調整し、これを肥満細胞調整液とした。

## 遊離ヒスタミンの測定

肥満細胞調整液の1.8mlを37°C、10分間インキュベートした後、後記第1表に示す濃度となるようにPBSに溶解した被検体の0.1ml及びコントロール48/80(10μg/ml)の0.1mlを加

試験例2

## ピクリクロライドによる過敏性皮膚炎に対する効果

ピクリクロライド(PC)で感作したマウスの両耳に、1%PCオリーブ油を塗布することにより誘発される過敏性皮膚炎に対する上記調製した水性エキスの抑制効果の評価した。

実験条件

実験動物としてddy系雄性マウス(体重25~27g)を用い、後記第2表に示す投与量となるように上記水性エキスの生理食塩水溶液を経口投与した。水性エキスは過敏性皮膚炎誘発前及び16時間後にそれぞれ1回投与した。

過敏性皮膚炎の誘発はAshersonらの方法〔Immunology, 15, 405(1968)]に準じて行なった。

すなわち、マウスの腹部に7%ピクリクロライド(PC)のエタノール溶液0.1mlを塗布して感作し、7日後に両耳に1%PCオリーブ油溶液を0.02mlずつ塗布してマウス過敏性皮膚炎を

断角させた。

結果

第2表に示すとおりである。

第2表 接触性皮膚炎抑制効果

被検体	投与量 (mg/kg)	マウス数	接触抑制率 (%)
対照群	—	10	—
水溶性エキスを	100	10	50.2
	500	10	60.4

\* 接触性皮膚炎誘発24時間後の耳朵の厚さ及び同誘発直前の耳朵の厚さの差を腫脹度 ( $\times 10^{-3}$ ) として計測し、次式により腫脹抑制率を求めた。

$$\text{抑制率}(\%) = \left( 1 - \frac{\text{被検体投与群平均腫脹度}}{\text{対照群平均腫脹度}} \right) \times 100$$

### 試験例3

急性毒性

試験条件

価値あるものである。

本発明の抗アレルギー剤の投与量は、年齢、体重、症状、投与方法及び投与回数等により異なるが、痲痺乾燥水溶性エキスを粉末として通常0.5g～1.0g/日、好ましくは3～5g/日であり、1回ないし数回に分けて投与される。本発明の抗アレルギー剤は経口的に投与されるのがもつとも一般的であるが、パップ剤、陰部用等として経皮的にも有効に使用することが出来る。

本発明の抗アレルギー剤の有効成分は、通常剤剤用剤と混合して調製した製剤の形で投与される。製剤の具体例としては、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、トローチ剤、軟膏剤、パップ剤、リニメント剤、ローション剤等が挙げられる。また粉砕剤としても用いられる。これらの製剤は常法に従って調製することができるが、製剤用剤としては、製剤分野において常用されかつ本発明の有効成分と反応しない物質が用いられる。

つぎに本発明の抗アレルギー剤の製剤例を示す。

特開昭63-170323 (4)

ddY-3系雄性マウスを使用し、上記製剤例で調製した水溶性エキスを経口投与及び腹腔内投与により投与して急性毒性を試験した。

結果の判定

投与7日後の生存率からLD<sub>50</sub>値を算出した。結果を第3表に示す。

第3表 マウスに対する急性毒性

被検体	投与方法	LD <sub>50</sub> (mg/kg)*
水溶性エキスを	経口	> 5000
	腹腔	> 2000

\* LD<sub>50</sub> 計算法: Behrens - Kaerber法による。

第1表ならびに第2表に示す結果から明らかなように、本発明の有効成分である柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスを優れた抗アレルギー作用を示し、しかもその毒性は第3表に示すように極めて低い。したがって、本発明の特長とする水溶性エキスの安全性は極めて広く、連続的服用を要するアレルギー疾患に対する抗アレルギー剤として

### 製剤例1

水溶性エキスを	25 g
スターチ	5.0 g
ラクトース	3.0 g
タルク	1.5 g

上記成分をよく混合し、顆粒状に形成した後、常法により100個のカプセルに充填する。

### 製剤例2

水溶性エキスを	25 g
スターチ	5.2 g
カルシウム カルボキシメチル セルロース	4.4 g
微細結晶性セルロース	4.6 g
ステアリン酸マグネシウム	0.8 g

上記成分をよく混合し、常法により打錠して200mg重量の錠剤200錠を調製する。

### 製剤例3

水溶性エキスを	25 g
無水硫酸ナトリウム	210 g
炭酸水素ナトリウム	250 g
ホウ砂	10 g

黄色202号 少々  
上記成分をよく混合してパウダータイプの剤  
500gを調製する。

## 製剤例4

水溶性エキス	1g
エチルアルコール	10g
グリセリン	5g
アルヤン酸プロピレングリコール	0.2g
ポリオキシエチレンセチルエーテル20E.O.	1g

黄色203号 少々

精製水 全量で100g

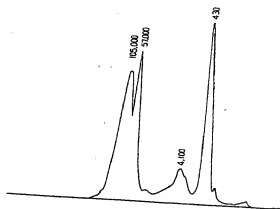
エチルアルコールにポリオキシエチレンセチルエーテルを溶解した後、精製水を加え、ついで水溶性エキスをらびに色素を溶解し、得られた溶液をアルヤン酸プロピレングリコールとグリセリンの均一混合液に少量ずつ加え、攪拌混合してローション剤100gを調製する。

## ※図面の簡単な説明

第1図は本発明の抗アレルギー剤の有効成分として使用される西州ミカンの未成熟の果実の水溶

性エキスのガウス・バーミエーションクロマトグラムであり、第2図は同じ水溶性エキスのKBr錠法で測定した赤外吸収スペクトルである。

第1図



第 2 図

